

DEVELOPPEMENT D'UNE MATRICE ETHYLCELLULOSE/EUDRAGIT® POUR LA LIBERATION CONTROLEE ET CONTINUE DE L'INSULINE

DEVELOPMENT OF ETHYLCELLULOSE/EUDRAGIT® MATRIX FOR CONTROLLED AND CONTINUOUS RELEASE OF INSULIN

Gora MBAYE¹, Augustin NDIAYE¹, Louis Augustin Diaga DIOUF¹, Abdoulaye Séga DIALLO², Adama DIEDHIOU³, Mbaye SENE¹, Mamadou MBODJ⁴, Oumar THIOUNE⁵, Amadou Moctar DIEYE⁶, Ibrahima DIOP¹, Aynina Cisse⁷, Mounibé DIARRA¹.

¹-Laboratoire de Biophysique et de Physique Pharmaceutique, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie de Dakar, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

²-Laboratoire d'histologie et d'embryologie, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. ³-Laboratoire de Chimie Thérapeutique et Organique, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie, Université Cheikh Anta Diop de Dakar. ⁴-Laboratoire de Biophysique et de Médecine Nucléaire, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie de Dakar, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

⁵-Laboratoire de Pharmacie Galénique, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie de Dakar, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

⁶-Laboratoire de Pharmacologie et de pharmacodynamie, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie de Dakar, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

⁷-Laboratoire de Biochimie Pharmaceutique, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie de Dakar, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.

Email : mbaygo@yahoo.fr

Adresse : Laboratoire de Biophysique et de Physique Pharmaceutique, Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontologie de Dakar, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP : 5005, Dakar, SENEGAL.

Téléphone : mobile : 00221 77 552 56 86 - Bureau : 00221 33 865 23 41 - Poste : 254.

RESUME

But : Le diabète de type I est une maladie chronique nécessitant des prises répétées d'insuline toute une vie durant par voie parentérale. Ce mode d'administration en plus d'être traumatisant peut poser un problème d'observance du traitement chez le patient. Dans le souci de pallier ces difficultés, nous avons envisagé le développement d'une matrice ethylcellulose/eudragit® susceptible de faciliter la mise au point d'un système thérapeutique transdermique de libération contrôlée (STTLC) de l'insuline.

Matériel et méthode : Comme principe actif nous avons utilisé de l'insuline humaine anhydre Actrapid® HM des laboratoires Novo Nordisk, les excipients sont l'éthylcellulose, les Eudragit® RS 100 et le butylphthalate. Nous avons élaboré deux matrices Ethylcellulose/Eudragit dans les rapports 1 : 1 et 2 : 1 dans lesquels sont incorporées différentes proportions d'insuline.

Résultats : L'étude de la libération de l'insuline en milieu tampon phosphate à pH 7,4 a montré une libération continue avec des profils fortement dépendants du rapport Ethylcellulose/Eudragit et de la charge initiale en insuline.

Conclusion : Cette étude a montré que la matrice Ethylcellulose/Eudragit se prête à la mise au point d'un système à libération contrôlée d'insuline. Ceci nous permet d'envisager pour la poursuite de notre travail l'association de cette matrice avec d'autres éléments pour la réalisation d'un STTLC de l'insuline.

Mots clés : Matrice – ethylcellulose/eudragit® - libération contrôlée – insuline.

SUMMARY

Purpose: Diabetes Type I is a chronic disease requiring insulin repeated injections by parenteral during a lifetime. This method of administration as well as traumatic can be a problem for adherence of patients to treatment. In order to overcome these difficulties, we considered the development of therapeutic transdermal drug delivery (TTDD) of insulin.

Material and method: As active ingredient we used anhydrous human insulin Actrapid® HM from Novo Nordisk laboratory, the excipients are ethyl cellulose, Eudragit® RS 100 and butylphthalate. We developed two matrix Ethylcellulose / Eudragit® in reports 1 and 2, in which are incorporated different proportions of insulin.

Results: The study of the release of insulin in phosphate buffer at pH 7.4, showed a continuous release profiles strongly depending on Ethylcellulose/Eudragit® report and the initial charge of insulin.

Conclusion : This study shows that the matrix Ethylcellulose/Eudragit® lends itself to the development of a controlled release of insulin. This allows us to continue this work by combining this matrix with other elements for achieving an insulin TTDD.

Keywords: Matrix – ethylcellulose/eudragit® - controlled release – insulin.

INTRODUCTION

Le diabète sucré, connu depuis l'antiquité, restait une maladie redoutable jusqu'au début du siècle. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), il ya environ 200 millions de diabétiques dans le monde dont les deux tiers dans les pays en voie de développement et leur nombre pourrait doubler d'ici 2025 [1]. La fréquence du diabète est évaluée entre 1 – 6 % de la population sub-saharienne [2]. Au Sénégal, la prévalence du diabète est estimée à 143 000 patients en 2000 et pourrait passer à 421 000 en 2030 selon les projections de l'OMS [3]. A l'heure actuelle, la voie parentérale est le seul mode d'administration de l'insuline dans le diabète de type I. Ce mode d'administration en plus d'être traumatisant peut poser un problème d'observance du traitement chez le patient. Dans le souci de pallier ces difficultés, nous avons envisagé la mise au point d'un système thérapeutique transdermique de libération contrôlée (STTLC) de l'insuline. Ainsi nous avons élaboré deux matrices Ethylcellulose/Eudragit dans les rapports 1 et 2 dans lesquels sont incorporées différentes proportions d'insuline dont nous avons étudié la libération en fonction du temps.

MATERIEL ET METHODES

1-Matériel

Comme principe actif nous avons utilisé de l'insuline Actrapid® HM qui est une insuline humaine synthétisée par le laboratoire Novo Nordisk. Cette insuline est produite par la technique de l'ADN recombinant sur *Saccharomyces cerevisiae*. Elle a une bonne distribution plasmatique, sa concentration plasmatique maximale est atteinte 1,5 à 2,5 heures après administration sous cutanée [4]. Les excipients sont constitués par l'éthylcellulose, les Eudragit® RS100 et le butylphthalate. L'éthylcellulose est un polymère d'unités de glucose anhydre au niveau desquels trois radicaux OC₂H₅ se substituent à trois OH, il est bien toléré par l'organisme ; en plus n'est ni irritant ,ni allergisant [5,6,7]. Les Eudragit® sont des copolymères estérifiés d'acides acryliques et méthacryliques contenant de faibles teneur en groupements ammonium quaternaire qui les rendent perméables [8], ils sont utilisés

en phase externe par l'intermédiaire d'un liquide de mouillage. Quant au butylphthalate, il est constitué d'un noyau benzénique relié à deux groupements carboxylates formant une structure de type diester. Il est utilisé comme plastifiant pour réduire la rigidité du matériau et permet de modifier les propriétés de diffusion de ce dernier [9].

2-Méthodes

2.1- Préparation des systèmes

Les systèmes sont préparés en mélangeant les quantités requises de principe actif et d'excipients dans un certain ordre. Nous avons mélangé dans une erlenmeyer sous agitation magnétique continue l'insuline, le butylphthalate, l'Eudragit® RS100 et l'éthylcellulose. La solution de polymères obtenue est agitée à faible vitesse pendant 24 heures. Ensuite, nous avons disposé sur un film de polycarbonate préalablement enduit d'éthanol absolu des anneaux de cuivre de diamètre $\varnothing = 18$ mm, puis procédé à l'élaboration des systèmes en introduisant le mélange obtenu dans les anneaux de cuivre. Nous les avons laissé sécher à la température ambiante pendant 24 heures. Ensuite nous avons détaché les anneaux de cuivre et la matrice du film de polycarbonate, puis à l'aide d'une lame avons découpé la matrice (sous la forme de film) qui se trouve à l'intérieur de l'anneau de cuivre. Les matrices obtenues sont souples et homogènes. Pour chaque formulation, nous avons pesé et étiqueté les lots obtenus. Différents lots de 10 unités ont été préparés. La composition de ces différents lots est indiquée dans les tableaux I et II.

2.2- Caractérisation des systèmes

2.2.1-Essai d'uniformité de masse

La masse moyenne ainsi que les écart type des systèmes ont été calculés et reportés dans le tableau III.

2.2.2-Etude de la libération de l'insuline

L'étude de la libération de l'insuline a été réalisée en milieu tampon phosphate sur une durée de 3 jours. Vu que nous envisageons la réalisation d'unités à utilisation quotidienne, nous avons choisi d'effectuer des dosages toutes les 24 heures. En effet, lors de l'application du dispositif transdermique le taux de principes actifs

s'élève graduellement pour se stabiliser après 12 heures [10]. Pour chaque lot, l'étude de la libération de l'insuline a été effectuée sur trois unités de masse connue. Le dispositif utilisé pour réaliser l'étude (figure 1) est constitué d'une plaque Costar de 12 puits muni d'un couvercle qui limite l'évaporation du milieu de dissolution. Un insert sous la forme de nacelle a permis le positionnement de la matrice Ethylcellulose/Eudragit® dans un puits contenant le milieu de dissolution. A la base de la nacelle est disposé du scotch double faces qui va permettre de fixer la matrice Ethylcellulose/Eudragit®. Le milieu de dissolution est constitué d'une solution tampon phosphate à pH =7,4 obtenue en dissolvant 2,38 g de phosphate mono potassique et 8 g de chlorure de sodium, dans 1 L d'eau distillée. Le milieu de dissolution permet la solubilisation des quantités d'insuline contenues dans les différentes unités étudiées [11]. Chaque unité est positionnée par la nacelle dans un puits contenant 2 ml de milieu de dissolution à la température ambiante au temps J_0 . La manipulation est réalisée sans agitation. L'ensemble du dispositif muni de son couvercle est maintenu à la température ambiante. Toutes les 24H, 250µl du milieu de dissolution sont prélevés pour un dosage, puis immédiatement remplacés par 250µl de solution tampon phosphate fraîchement préparée. La méthode de Lowry [12], est utilisée pour le dosage des quantités d'insuline libérées à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible JENWAY modèle 6405 à la longueur d'onde de 750 nm. La courbe d'étalonnage (figure 2) a permis de calculer les quantités d'insuline libérées.

RESULTATS

Les résultats obtenus sont représentés sous forme de courbes (figures 3, 4 et 5) dont les paramètres de modélisation sont indiqués dans les tableaux IV et V. On observe une similarité des courbes de libération dans un même lot, ce qui est confirmé par la reproduction des barres des écarts-types pour chaque point sous forme de barres verticales sur les courbes de libération. Les courbes des figures 3 et 4 illustrent les quantités d'insuline libérées par unité de surface en fonction du temps (Q_e en mg/cm²), tandis que celles de la figure 5 montrent les quantités d'insuline libérées par unité de surface en fonction du temps

des lots 1 et 4 qui diffèrent par le rapport Ethylcellulose/Eudragit®.

DISCUSSION

Les études de la libération de l'insuline réalisées en milieu aqueux ont montré des profils de libérations linéaires suivant différentes lois selon la composition de la matrice.

Concernant les lots 1, 2 et 3 pour lesquels le rapport Ethylcellulose/Eudragit® est égal à 2, la figure 3 montre des profils de libération linéaires en fonction du temps et pouvant être modélisés par une équation du type :

$$Q_e = A + Bt \text{ [Equation 1]}$$

Q_e quantité d'insuline libérée par unité de surface après un temps t de la matrice (en mg/cm²) , A et B sont des constantes indiquées sur le tableau IV.

Nous observons que les quantités d'insuline libérées par les unités du lot 1 sont plus faibles que celles des lots 2 et 3 qui ont des charges initiales en insuline plus élevées. Nous remarquons par ailleurs que les quantités d'insuline libérées sont identiques durant les deux premiers jours pour les lots 2 et 3, au-delà nous notons une diminution des quantités libérées pour le lot 2 dont la charge initiale est plus faible. Ainsi, il apparaît que les quantités d'insuline libérées par unité de surface augmentent avec la charge initiale en insuline [7,13,14] .

Concernant les lots 4, 5 et 6 pour lesquels le rapport Ethylcellulose/Eudragit® est égal à 1, la figure 4 montre les courbes des quantités d'insuline libérées par unité de surface (en mg/cm²) selon deux types de profils :

- un profil de libération linéaire en fonction du temps pour le lot 4 modélisé par la relation suivante :

$$Q_e = A + Bt \text{ [Equation 2]}$$

Q_e quantité d'insuline libérée par unité de surface après un temps t de la matrice Ethylcellulose/Eudragit® (en mg/cm²), A et B sont des constantes indiquées sur la tableau V ;

- un profil de libération, pour les lots 5 et 6, qui peut être modélisé par la relation suivante :

$$Q_e = A + Bt + B_1t^2$$

Q_e quantité d'insuline libérée par unité de surface après un temps t de la matrice Ethylcellulose/Eudragit® (en mg/cm²), A , B et B_1 sont des constantes indiquées sur le tableau V. Il apparaît ici un terme supplémentaire B_1t^2 , qui représente un écart à la linéarité par rapport aux équations 1 et 2. Ainsi, lorsque le rapport

Ethylcellulose/Eudragit® est égal à 1, nous avons toujours un profil de libération linéaire en fonction du temps quand la charge initiale en insuline n'est pas élevée (lot 4), mais un écart à la linéarité et une augmentation des quantités libérées (mg/cm²) sont observés lorsque la charge initiale en insuline augmente (lots 5 et 6). Nous remarquons aussi que le lot 6 qui a une charge initiale 1,5 fois plus importante que le lot 4 libère des quantités d'insuline deux fois plus importantes. Le terme B_1t^2 vient de la nature des Eudragit® qui sont des polymères poreux contrairement à l'éthylcellulose [7,15,16]. Ainsi, de même que précédemment, nous avons observé que les quantités d'insuline libérées par unité de surface augmentent avec la charge initiale en insuline avec un écart à la linéarité représenté par le terme supplémentaire B_1t^2 .

CONCLUSION

L'analyse des profils de libération, et leurs modélisations par des équations montrent que la matrice Ethylcellulose/Eudragit® peut se prêter à la mise au point d'un système à libération contrôlée d'insuline, avec une libération linéaire et fortement dépendante de la charge initiale et du rapport éthylcellulose/eudragit®. Ainsi, nous pouvons envisager pour la suite, travailler au développement d'une nouvelle formulation pour une administration contrôlée de l'insuline par voie transdermique dans le but d'améliorer la distribution de l'insuline pour la maîtrise glycémique et améliorer la qualité de vie des diabétiques.

REFERENCES

1. La conscience – SCIENCES- Diabète : L'Afrique de plus en plus touchée, 20 septembre 2005.
2. Sarah Wild and associate : Global prevalence of diabetes, Estimates for the year 2000 and projection for 2030. Diabetes care, vol 27, N°5, Mai 2004, p 1049.
3. WHO ; Country and regional Data. Prevalence of diabetes worldwide. WHO African Region).
4. Dictionnaire des médicaments .VIDAL 2005.
5. Diop A Y. Système hydroxyapatite /polymères pour la libération contrôlée de l'acide l'acetylsalicylique. Thèse Pharm., Dakar, 2003, N°7.
6. DIOUF LA. Système hydroxyapatite /polymères pour la libération contrôlée du paracétamol et de l'acide niflumique. Thèse Pharm., Dakar, 2004, N°71.
7. DIOP I. Développement d'une matrice ethylcellulose/eudragit® pour la libération contrôlée et continue d'insuline. Thèse Pharm., Dakar, 2007, N°03.

8. PLAIZER –VERCAMMEN J., DAUWE D., BRION P. Possibility of use of Eudragit RS as a sustained release matrix agent for the incorporation of water-soluble active compounds at high percentages. S.T.P Pharma. Sc. 1997, 7, 6 : 491-497.
9. RHAINDS M., SAINT LAURENT L. Institut National de Santé Publique Québec, communiqué de veille toxicologie ,7 Janvier 2004.
10. CAPP INFO. Bulletin d'information du département de gériatrie HUG, 2002, N°18.
11. LUCKY A. Etude de la sécrétion de l'insuline et du glucagon. Editions université de Liège faculté de médecine, 1974, 340p.
12. RAY N. Extraction, purification et analyse oligomérique d'un mutant d'Hsc 70. Rapport de stage. Université Paris VI, 2001.
13. Park EJ, Werner J, Smith NB. Ultrasound mediated transdermal insulin delivery in pigs using a lightweight transducer. *Pharm Res.* 2007;24(7):1396-1401.
14. Junyaprasert VB , Pornsuwannapha S. Floating properties and release characteristics of hollow microspheres of acyclovir. *Drug Deliv.* 2008 Jun;15(5):331-341.
15. El-Malah Y, Nazzal S. Novel use of Eudragit NE 30D/Eudragit L 30D-55 blends as functional coating materials in time-delayed drug release applications. *Int J Pharm.* 2008; 357(1-2):219-227.
16. SINGH D, SARAF S, DIXIT VK, SARAF S. Formulation optimization of gentamicin loaded Eudragit RS 100 microspheres using factorial design study. *Biol Pharm Bull.* 2008;31(4):662-667.

Tableau I : Composition (en g) des lots 1, 2 et 3 où le rapport Ethylcellulose/Eudragit® est de 2.

	Eudragit® RS100	Ethylcellulose	Insuline	Butylphtalate
L ot 1	6	12	5	3
L ot 2	6	12	10	3
L ot 3	6	12	15	3

MALI MEDICAL

Article original

Matrice ethylcellulose/eudragit pour ...

Tableau II : Composition (en g) des lots 4, 5 et 6 où le rapport Ethylcellulose/Eudragit® est de 1.

	Eudragit® RS100	Ethylcellulose	Insuline	Butylphthalate
Lot 1	6	6	5	3
Lot 2	6	6	10	3
Lot 3	6	6	15	3

Tableau III : Masse moyenne et écart type des lots élaborés.

	Masse moyenne (g)	Ecart type (g)
Lot 1	0,084	0,009
Lot 2	0,089	0,009
Lot 3	0,074	0,015
Lot 4	0,063	0,006
Lot 5	0,058	0,006
Lot 6	0,068	0,003

scotch double faces

insert

ouïts

milieu de dissolution

matrice

Figure 1 : Dispositif utilisé pour l'étude de la libération de l'insuline.

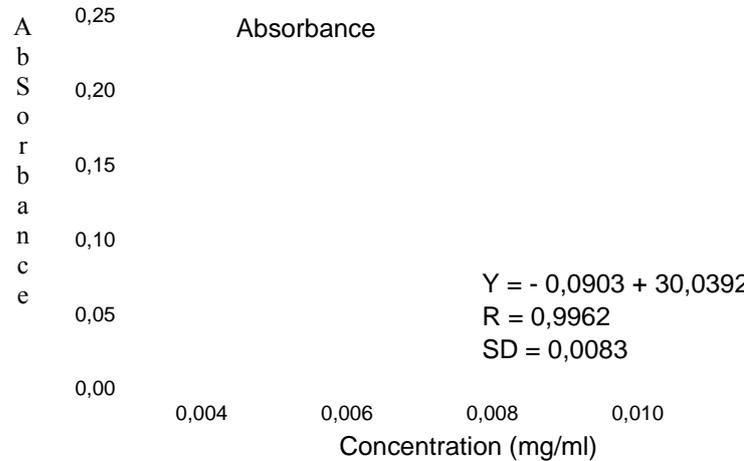


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de l'insuline.

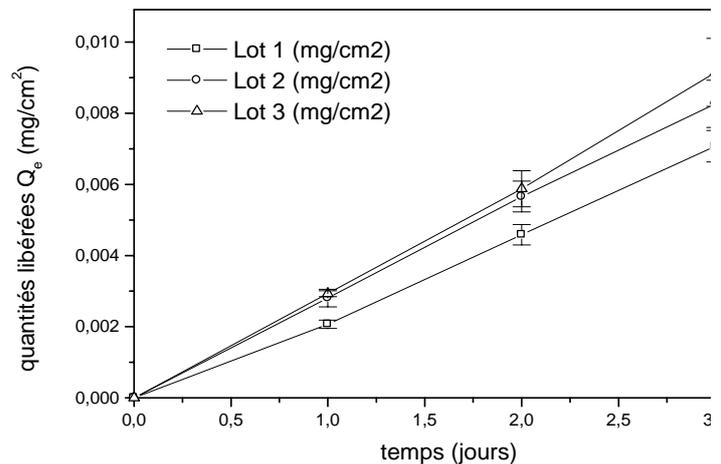


Figure 3 : Profils de libération de l'insuline dans les lots 1, 2 et 3.

Tableau IV : Paramètres de modélisation des profils de libération présentés à la figure 3.

	A	B	R	SD
Lot 1	-1,2713 10^{-4}	0,0023 7	0,9990 3	1,6520 $8 \cdot 10^{-4}$
Lot 2	3,4730 $4 \cdot 10^{-5}$	0,0027 6	0,9998 2	8,2167 $8 \cdot 10^{-5}$
Lot 3	- 7,1426 $7 \cdot 10^{-5}$	0,0038 4	0,9996 3	1,3128 $4 \cdot 10^{-4}$

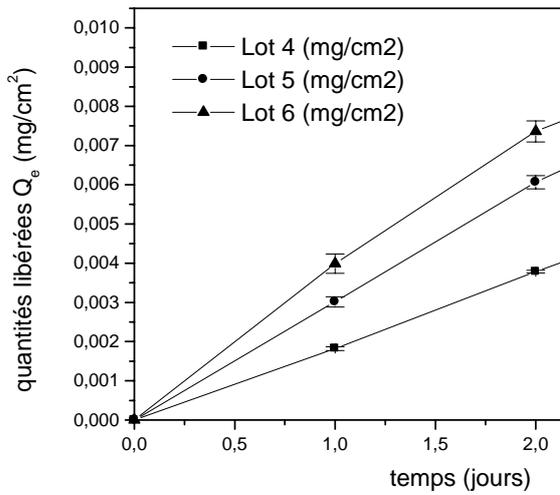


Figure 4: Profils de libération d'insuline dans les lots 4, 5 et 6.

Tableau V: Paramètres de modélisation des profils de libération présentés à la figure 4.

	A	B	B ₁	R	SD
Lot 4	-1,75618.10 ⁻⁵	0,00188		0,99991	3,9657.10 ⁻⁵
Lot 5	-3,62376.10 ⁻⁵	0,00331	-1,59563.10 ⁻⁴	0,99935	1,62059.10 ⁻⁴
Lot 6	-3,8269.10 ⁻⁵	0,00464	-4,98676.10 ⁻⁴	0,99942	1,71144.10 ⁻⁴

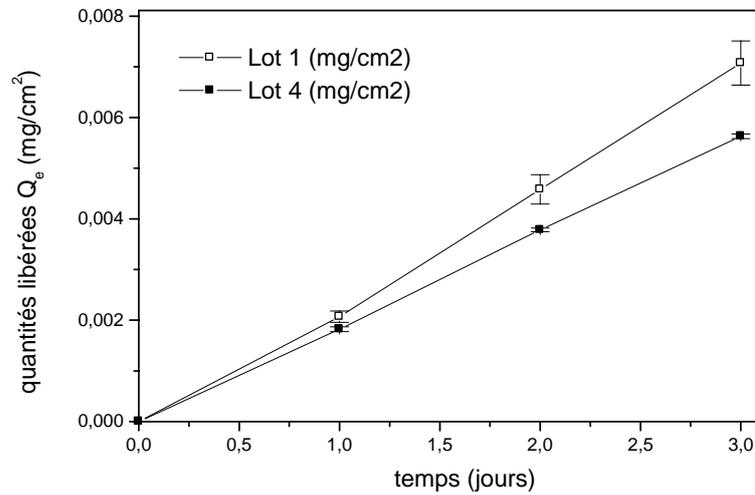


Figure 5: profils de libération de l'insuline dans les lots 1 et 4.